

黄荆中 β -石竹烯对棉蚜的毒力和作用机理

刘雨晴¹, 薛明^{1,*}, 张庆臣¹, 周方园¹, 尉吉乾²

(1. 山东农业大学植保学院, 山东泰安 271018; 2. 杭州市植保土肥总站, 杭州 310020)

摘要: 为明确泰山野生黄荆 *Vitex negundo* 种子中的有效杀虫活性成分、杀虫作用及其毒理机制, 本研究采用硅胶柱层析, GC-MS 技术和生物活性追踪方法, 测定了泰山黄荆种子中的杀虫活性成分; 采用生物测定和生化分析法, 研究了黄荆中的 β -石竹烯和 α -蒎烯对棉蚜 *Aphis gossypii* 的毒力及作用机制。结果表明: 通过三级柱层析从黄荆中分离得到对棉蚜毒力高的馏分 β -石竹烯和 α -蒎烯, 其含量分别达 7.68% 和 5.45%。 β -石竹烯和 α -蒎烯对棉蚜的触杀毒力都较高, 并以 β -石竹烯的毒力最高, LD_{50} 为 $0.65 \times 10^{-1} \mu\text{g}/\text{头}$ 。 β -石竹烯和 α -蒎烯对棉蚜均具有强烈的忌避作用, 处理棉蚜 24 h 的 AFC_{50} 分别为 0.80×10^3 和 $0.89 \times 10^3 \text{ mg/L}$, 其中以 β -石竹烯的忌避毒力最大。 β -石竹烯和 α -蒎烯以亚致死剂量处理棉蚜, 对其繁殖力、排蜜频率和排蜜量均有显著不利影响。 β -石竹烯和 α -蒎烯处理棉蚜或离体酶, 对乙酰胆碱酯酶、多酚氧化酶、羧酸酯酶和谷胱甘肽-S-转移酶都有明显抑制作用。结果显示 β -石竹烯和 α -蒎烯是黄荆种子提取物中的重要杀虫活性成分, 并且其致毒机制存在多样性, 开发应用价值大。

关键词: 黄荆; 棉蚜; β -石竹烯; α -蒎烯; 毒力; 杀虫机理

中图分类号: Q965.9 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2010)04-0396-09

Toxicity of β -caryophyllene from *Vitex negundo* (Lamiales: Verbenaceae) to *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) and its action mechanism

LIU Yu-Qing¹, XUE Ming^{1,*}, ZHANG Qing-Chen¹, ZHOU Fang-Yuan¹, WEI Ji-Qian² (1. Department of Entomology, College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; 2. Soil and Fertilizer Plant Protection Station of Hangzhou, Hangzhou 310020, China)

Abstract: To explore the insecticidal active constituents, toxic effects and toxicological mechanisms of *Vitex negundo* L. from Taishan Mountain, we investigated the insecticidal components of *V. negundo* weed seed extract utilizing silica gel column chromatography, GC-MS technology and biological activity tracking, and the toxicity and action mechanism of β -caryophyllene and α -pinene, isolated from *V. negundo* weed seed extract, against cotton aphid *Aphis gossypii* using bioassay and biochemical analysis. The results showed that β -caryophyllene and α -pinene with high toxic effect against *A. gossypii* were isolated from *V. negundo* weed seed extract by silica gel column chromatography repeatedly, with their contents as high as 7.68% and 5.45%, respectively. The contact toxicities of β -caryophyllene and α -pinene against *A. gossypii* were all obvious, and the higher one was β -caryophyllene whose LD_{50} reached $0.65 \times 10^{-1} \mu\text{g}$ per individual. We also found strong repellent effect of β -caryophyllene and α -pinene against *A. gossypii*, with their AFC_{50} values being 0.80×10^3 and $0.89 \times 10^3 \text{ mg/L}$, respectively, 24 h after treatment. At the sublethal dose, they had significant adverse effects on the fertility, honeydew excretion frequency and honeydew production of the aphid. *In vitro* and *in vivo* conditions, β -caryophyllene and α -pinene distinctly inhibited the activities of acetylcholine esterase, polyphenol oxidase, carboxylesterase and glutathione S-transferases in *A. gossypii*. The results suggest that β -caryophyllene and α -pinene are important insecticidal compounds of *V. negundo*, and their action mechanisms show the characteristics of diversity. Therefore, they are worthy of further exploitation and application.

Key words: *Vitex negundo*; *Aphis gossypii*; β -caryophyllene; α -pinene; toxicity; action mechanism

基金项目: 山东省自然科学基金项目(Y2006D13); 山东省教育厅项目(J04C06)

作者简介: 刘雨晴, 女, 1981年2月生, 山东巨野人, 博士研究生, 主要从事害虫综合治理方向的研究, E-mail: myjoe00@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: xueming@sdau.edu.cn

收稿日期 Received: 2009-11-01; 接受日期 Accepted: 2010-03-29

因植物杀虫活性物质具有取材广泛, 对人、畜安全, 不易引起害虫抗药性, 在自然环境中易降解等优点, 而成为当今农药研究与开发的一个重要方面(仲建锋等, 2007)。植物中的杀虫成分不仅可以直接利用, 还可作为仿生合成新农药的先导化合物。我国幅员辽阔, 植物资源十分丰富, 研究和开发植物杀虫资源具有独特的优势。

黄荆 *Vitex negundo* 属马鞭草科牡荆属 *Vitex* L., 在我国大部分地区都有分布, 野生资源十分丰富。黄荆叶片、种子、根和树皮中含有多种结构新颖, 生物活性强的次生代谢物质, 目前黄荆化学成分已报道 120 多种, 它们分别是萜烯类、黄酮类、有机酸类、木脂素类、多糖类、生物碱类和植物甾醇类。其中大部分为药用成分和抗氧化剂, 作为药用植物和抗氧化剂是黄荆研究与开发的重点(郑公铭等, 1999; Azhar-ul-Haq *et al.*, 2006; Zheng *et al.*, 2010)。对黄荆杀虫活性的研究较少, 且主要集中在对黄荆叶片的直接利用和黄荆种子与叶片粗提物的杀虫活性研究方面。本实验室通过前期研究发现黄荆种子中含有高活性的杀虫活性物质, 杀虫谱广, 对菜青虫 *Pieris rapae*, 小菜蛾 *Plutella xylostella*, 棉蚜 *Aphis gossypii* 和苹果黄蚜 *Aphis citricola* 有较高的毒杀活性, 还对小菜蛾成虫产卵有明显的驱避活性, 并且含有对杀虫剂吡虫啉有增效作用的成分(袁林等, 2004, 2006; 蒋恩顺等, 2009)。

深入研究黄荆种子中的杀虫活性物质, 分离鉴定其杀虫活性成分, 阐明其杀虫作用和毒理机制, 对于进一步开发和利用黄荆这一植物资源, 开发新型的环境友好植物杀虫剂, 具有较大的理论和实践意义。本实验利用采自山东泰山的黄荆种子获得了有机溶剂提取物, 分离鉴定了其杀虫活性成分, 研究了其主要成分 β -石竹烯对棉蚜的毒力及作用机制。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

用传统棉花营养液培养棉花(品种: 丰抗 6 号)饲养棉蚜作为虫源, 置于 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 相对湿度为 60%~75%, 光周期为 14L:10D 的恒温光照培养箱内连续饲养。

1.2 黄荆种子提取物的制备

黄荆种子采自泰山。参照袁林等(2004)报道

的方法, 将自然晾干后的黄荆种子用万能粉碎机粉碎后, 用二氯甲烷浸泡提取, 提取液用布氏漏斗抽滤, 滤液经旋转蒸发浓缩得膏状物。膏状物用丙酮溶解, 过滤除去沉淀, 滤液经旋转蒸发浓缩后备用。

1.3 试剂

β -石竹烯(β -caryophyllene) $\geq 98\%$, 购自上海晶纯试剂有限公司; α -蒎烯(α -pinene) $\geq 96\%$ 原油, 购自上海诺泰化工有限公司; 硅胶 G(200 ~ 300 目)和 GF₂₅₄ 型薄层层析硅胶板均购自青岛海洋化工集团公司; 碘化硫代乙酰胆碱(ATC), 谷胱甘肽, 毒扁豆碱, 坚固蓝 B 盐等均为美国 Sigma 公司产品; 溴甲酚蓝, 邻苯二酚, α -醋酸萘酯, 十二烷基硫酸钠(SDS), 1-氯-2, 4-二硝基苯(CDNB), 5, 5-二硫代双-(2-硝基苯甲酸)(DTNB)等均为国产分析纯。

1.4 黄荆杀虫活性成分的分离和分析

1.4.1 黄荆杀虫活性成分的分离: 以棉蚜无翅成蚜为试虫, 采用毛细管点滴法对黄荆种子提取物柱层析馏分进行活性跟踪测定, 以丙酮(含 0.2% 苏丹红和 1% 蒸馏水)为溶剂, 将药剂稀释成 10 000 和 20 000 mg/L, 每头蚜虫点滴 0.0338 μL , 以点滴丙酮(含 0.2% 苏丹红和 1% 蒸馏水)为对照。用 10 cm \times 120 cm 的玻璃柱对上述的黄荆种子提取物进行一级硅胶柱层析分离, 以石油醚湿法装柱, 依次用石油醚:丙酮(50:1, 20:1, 10:1, 5:1)和甲醇为流动相进行洗脱, 共收集 215 个馏分, 经薄层层析合并得到 5 个馏分, 其中 F1 为高活性馏分; 对 F1 进行二级柱分离, 用 5 cm \times 80 cm 的玻璃柱, 以石油醚:丙酮(20:1, 10:1, 8:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1)和甲醇作为流动相进行洗脱, 得到 279 个馏分, 合并得到 6 个馏分, 从 6 个馏分中又获得一个高活性的馏分 F1.2。进而再进行三级柱层析分离, 用 3.5 cm \times 60 cm 的玻璃柱, 石油醚:丙酮(8:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1)和甲醇作为流动相, 洗脱得到 323 个馏分, 合并得到 11 个馏分, 筛选出高活性的馏分 F1.2.3 进行成分分析鉴定。

1.4.2 黄荆活性组分的成分分析: 采用气-质联用仪(QP2010S, 日本岛津), 将上述筛选出的高活性馏分 F1.2.3 进行分析。色谱条件: 色谱柱 CP-SIL 8CB-MS(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm), 以 $3^\circ\text{C}/\text{min}$ 从 35°C 升到 280°C , 保持 10 min, 进样口温度 250°C , 接口温度 230°C , 汽化温度 290°C , 载气为

高纯氦气, 分流比 1/20, 载气流量 1.0 $\mu\text{L}/\text{min}$, 进样量 0.5 μL 。质谱条件: 扫描质量范围 40~550 amu, 离子源 EI 温度为 200 $^{\circ}\text{C}$, 电子能量为 70 eV (陈振峰等, 1999)。定量方法: 用气相色谱面积归一法定量。通过计算机检索鉴定其成分。

1.5 β -石竹烯和 α -蒎烯对棉蚜的毒力测定

1.5.1 触杀毒力: 参照王开运等(2000)毛细管点滴法, 以丙酮(含 0.2% 苏丹红和 1% 蒸馏水)为溶剂, 分别将 β -石竹烯、 α -蒎烯和黄荆种子提取物稀释成 625, 1 250, 2 500, 5 000 和 10 000 mg/L 5 个系列浓度, 选取大小一致的无翅成蚜, 用毛细管点滴器点滴处理, 每重复 15 头, 重复 5 次, 每头蚜虫点滴 0.0338 μL , 以点滴丙酮(含 0.2% 苏丹红和 1% 蒸馏水)为对照。处理后将蚜虫用毛笔轻轻挑入带有保湿的棉花叶片的养虫盒内, 24 h 检查死, 活虫数。所得结果用 Finney 机率分析法进行处理, 求得毒力回归方程和 LD_{50} 。

1.5.2 忌避毒力: 采用周琼等(2002)方法加以改进, 把 β -石竹烯、 α -蒎烯和黄荆种子提取物用丙酮溶解成 500, 1 000, 2 000, 4 000 和 8 000 mg/L 5 个系列浓度。将 1% 琼脂溶化倒入培养皿(Φ 12 cm)中央, 冷却, 将棉花嫩叶分别剪成直径为 4 cm 的圆片, 正面朝下紧贴在琼脂上。叶背的一侧用 200 μL 药剂的丙酮溶液涂布均匀, 另一侧用与药液等量的丙酮涂布作为对照, 待叶片晾干形成药膜, 将棉蚜无翅成蚜用毛笔轻轻挑到叶背中脉上, 每皿 16 头, 用保鲜膜封住皿口, 用昆虫针在保鲜膜上刺上多个通气孔, 24, 48 和 72 h 分别检查处理区和对照区蚜虫的栖息数, 计算忌避率。每皿为 1 个重复, 每处理重复 10 次。忌避率(%) = (对照区蚜虫数 - 处理区蚜虫数)/对照区蚜虫数 $\times 100\%$ 。

1.6 β -石竹烯和 α -蒎烯亚致死剂量处理对存活棉蚜繁殖力和蜜露的影响测定

1.6.1 对棉蚜繁殖力的影响: 采用毛细管点滴法以触杀毒力求得 β -石竹烯、 α -蒎烯和黄荆种子提取物对棉蚜的亚致死剂量 LD_{30} 依次为 0.41×10^{-1} , 0.95×10^{-1} 和 0.46×10^{-1} $\mu\text{g}/\text{头}$ 。分别以此剂量处理棉蚜无翅成蚜, 将处理好的棉蚜用毛笔轻轻挑到用棉球保湿的棉苗上, 放入封闭的养虫盒内, 24 h 后存活蚜虫采用改进的叶子圆片法(刘树生, 1987)继续饲养。利用 1% 琼脂保湿, 棉叶正面朝下紧贴在琼脂上, 将上述存活蚜虫用毛笔轻轻挑到棉叶的背面, 单头饲养, 处理和对照各设 15 个重

复, 用保鲜膜封住培养皿, 用昆虫针刺上多个通气孔, 每天检查棉蚜的产蚜数量, 并及时将新产的若蚜去除, 直到棉蚜全部死亡为止。

1.6.2 对棉蚜种群蜜露分泌的影响: 试虫处理同时对棉蚜繁殖力的影响测定。

对棉蚜排蜜量的影响: 参考杨益众等(2005)方法并略加改进。利用 1% 琼脂保湿, 倒入一次性塑料杯中, 每杯 15 mL, 待其凝固后, 将棉花叶圆片正面朝下贴于琼脂上, 将棉蚜接在棉花叶圆片上, 每杯 5 头。待到蚜虫固定后, 检查叶背面固定的蚜虫数, 处理和对照各 15 个重复。根据棉蚜的排蜜行为, 将塑料杯倒置在已称重的保鲜膜上, 这样棉蚜分泌的蜜露即掉落在保鲜膜上, 24 h 后用电子天平(FA1004, 上海)称重。

对蜜滴重量的影响: 采用孟玲(1996)方法并略有改进。在前述排蜜量测定方法的基础上每小时旋转一下杯子, 旋转角度每次不超过 30° , 避免蜜滴重叠, 接蜜滴 12 h 后取出统计保鲜膜上的蜜滴数并在电子天平上称重, 计算每滴蜜露的重量。

对棉蚜排蜜频率的影响: 采用孟玲(1996)方法并略有改进。将直径为 15 cm 的滤纸沿半径剪一中缝, 用 0.2% 溴甲酚蓝无水乙醇溶液处理, 阴干后套在棉株茎秆基部, 蜜滴落点处滤纸由黄变蓝, 每小时更换一次滤纸, 观察 24 h, 记录滤纸上的蓝点数即蜜滴数和棉叶背面蚜虫数, 计算单头棉蚜每天的排蜜频率。

1.7 β -石竹烯和 α -蒎烯对棉蚜相关酶活性的影响

1.7.1 对棉蚜乙酰胆碱酯酶(AChE)活性的影响: 按每 200 头无翅成蚜加入 1 mL 0.1 mol/L pH 7.5 的磷酸缓冲液, 于冰浴中用玻璃匀浆器匀浆, 在 4°C 离心机中 4 000 r/min 离心 15 min, 取上清液作为酶源。将 β -石竹烯、 α -蒎烯和黄荆种子提取物分别用丙酮溶解成 312.5, 625, 1 250, 2 500 和 5 000 mg/L 5 个系列浓度。

乙酰胆碱酯酶活性测定方法参照 Ellman (1961)。反应体系为 3 mL, 包括 0.2 mL 酶液, 0.1 mL (ATC:DTNB = 1:2), 0.1 mL 药剂的丙酮溶液, 2.1 mL 磷酸缓冲液, 27°C 水浴反应 15 min, 加入 0.5 mL 1×10^{-3} mol/L 毒扁豆碱终止反应, 混匀后在 UV-2450 (Shimadzu, Japan) 紫外-可见分光光度计于 412 nm 波长下测 OD 值, 重复 3 次。对照以 0.2 mL 磷酸缓冲液代替酶液。以每分钟每毫克蛋白质水解碘化硫代乙酰胆碱的量作为酶的比活力 [$\text{nmol}/(\text{min} \cdot \text{mg pro})$]。

1.7.2 对棉蚜多酚氧化酶(PPO)活性的影响: 按 200 头无翅成蚜加入 1 mL 0.2 mol/L, pH 6.8 的磷酸缓冲液匀浆, 6 000 r/min 离心 30 min。将 β -石竹烯、 α -蒎烯和黄荆种子提取物分别用丙酮溶解成 500, 1 000, 2 000, 4 000 和 8 000 mg/L 5 个系列浓度。

以 1.5 mL 100 mmol/L 邻苯二酚为底物, 加入 1.3 mL 磷酸缓冲液, 0.1 mL 药剂的丙酮溶液, 在 30℃ 下水浴 30 min, 加入 0.1 mL 酶液混匀, 对照以 0.1 mL 缓冲液代替酶液, 立即测定 420 nm 下 2 min 内 OD 值的变化, 从直线的斜率计算出多酚氧化酶的比活力 [$\Delta OD / (\text{min} \cdot \text{mg pro})$]。

1.7.3 对棉蚜解毒酶活性的影响: 按 100 头无翅成蚜加入 1 mL 0.04 mol/L pH 7.0 的磷酸缓冲液匀浆, 4 000 r/min 离心 20 min。

羧酸酯酶 (CarE) 活性测定方法参照 Van Asperene (1962) 方法, 将 β -石竹烯、 α -蒎烯和黄荆种子提取物分别用丙酮溶解成 625, 1 250, 1 500, 5 000 和 10 000 mg/L 5 个系列浓度。反应体系为: 5 mL 3×10^{-4} mol/L α -醋酸萘酯 (含 1×10^{-6} mol/L 毒扁碱), 25℃ 温育 5 min, 加 0.1 mL 药剂的丙酮溶液和 0.1 mL 酶液, 对照以 0.1 mL 缓冲液代替酶液, 在 30℃ 水浴振荡 30 min, 再加入 1 mL 显色剂 (1% 坚固蓝 B 盐和 5% SDS 按体积比 2:5 混合而成), 混匀后在室温下放置 30 min, 待颜色稳定后, 在 600 nm 处测 OD 值, 重复 3 次。以每分钟每毫克蛋白质水解 α -醋酸萘酯的量作为酶的比活力 [$\text{nmol} / (\text{min} \cdot \text{mg pro})$]。

谷胱甘肽-S-转移酶 (GST) 活性测定方法参考 Habig 和 Jakoby (1981) 方法。将 β -石竹烯、 α -蒎烯和黄荆种子提取物分别用丙酮溶解成 1 000, 2 000, 4 000, 8 000 和 16 000 mg/L 5 个系列浓度。反应体系为 2.4 mL 66 mmol/L pH 7.0 磷酸缓冲液, 0.3 mL 50 mmol/L 的谷胱甘肽, 0.1 mL 0.03 mol/L 的 CDNB, 0.1 mL 药剂的丙酮溶液, 0.2 mL 酶液, 立即测定 340 nm 下 OD 值的变化, 重复 3 次, 对照以 0.2 mL 缓冲液代替酶液。以每分钟每毫克蛋白使 OD 值改变 0.001 所需的酶量定义为一个酶活力单位 (U)。

1.7.4 β -石竹烯和 α -蒎烯处理棉蚜对其体内酶活力影响的测定: 试虫前处理以 β -石竹烯、 α -蒎烯和黄荆种子提取物各自对棉蚜触杀 LD_{50} 剂量点滴无翅成蚜, 分别在处理后 3, 6, 12 和 24 h 制备酶源。

β -石竹烯、 α -蒎烯和黄荆种子提取物对棉蚜体

内 4 种酶活力影响的测定同上述离体酶活测定方法, 并以相同体积的磷酸缓冲液代替 0.1 mL 药剂的丙酮溶液。

1.8 蛋白含量测定

参照 Bradford (1976) 的考马斯亮蓝法。

1.9 数据处理与分析

用 Finney 机率分析法和 SPSS 16.0 软件进行统计分析; 用单因素方差分析 Fisher's LSD 法多重比较分析差异显著性。

2 结果与分析

2.1 黄荆中的杀虫活性成分

三级柱层析获得的 11 个馏分的含量和对棉蚜的触杀活性如表 1 所示。F1.2.3 和 F1.2.8 的含量分别为 15.58% 和 9.89%。在 0.676 μg /头剂量下, F1.2.3 对棉蚜的毒杀作用最强, 死亡率达 86.67%; 其次是 F1.2.8, 死亡率达 73.33%; 其他馏分的死亡率也达 26.67%~46.67%。

2.2 黄荆杀虫活性成分的分析

利用气相色谱-质谱技术对 F1.2.3 活性组分进行成分分析, 含量达 1.0% 以上的有 18 个峰, 占总含量的 90.62%。鉴定出 16 种成分, 其中双丙酮醇 (diacetone alcohol) 12.24%, β -石竹烯 (beta-caryophyllene) 7.68%, 4-亚甲基-6-(1-亚丙烯基) 环辛烯 [4-methylene-6-(1-propenylidene)-cyclooctene] 6.46%, α -蒎烯 (alpha-pinene) 5.45%, 顺式 β -松油醇 (cis-beta-terpineol) 5.56%, 辛烯 (1-octene) 3.36%, 桉树脑 (eucalyptol) 3.08%, 1, 8-松油醇 (p-menth-1-en-8-ol) 2.58% 和 β -水芹烯 (beta-phellandrene) 2.05%。

2.3 β -石竹烯和 α -蒎烯对棉蚜的触杀毒力

对棉蚜的触杀毒力测定结果见表 2, β -石竹烯、 α -蒎烯和黄荆种子提取物分别处理棉蚜 24 h, 其 LD_{50} 分别为 0.65×10^{-1} , 1.68×10^{-1} 和 1.02×10^{-1} μg /头, 其中 β -石竹烯的毒力最大。

2.4 β -石竹烯和 α -蒎烯对棉蚜的忌避毒力

β -石竹烯和 α -蒎烯对棉蚜均具有强烈的忌避作用 (表 3), 处理 24, 48 和 72 h, β -石竹烯的 AFC_{50} 分别为 0.80×10^3 , 0.87×10^3 和 1.63×10^3 mg/L; α -蒎烯的 AFC_{50} 分别为 0.89×10^3 , 1.10×10^3 和 2.13×10^3 mg/L, 都明显大于相同处理时间下黄荆种子提取物对棉蚜的忌避作用; 在相同处理时间下 β -石竹烯忌避毒力又大于 α -蒎烯。

表 1 黄荆种子提取物三级柱层析各馏分的含量及其对棉蚜的生物活性
Table 1 The percentage of the third column chromatography fractions of *Vitex negundo* weed seed extract and their biological activities against *Aphis gossypii*

处理 Treatment	重复 Repetitions	试虫数 Number of aphids tested	校正死亡率 Corrected mortality (%)		含量 (%) Percentage
			0. 338 $\mu\text{g}/\text{individual}$	0. 676 $\mu\text{g}/\text{individual}$	
对照 Control	5	75	0. 00 \pm 0. 00 g	0. 00 \pm 0. 00 g	—
F1. 2. 1	5	75	33. 33 \pm 2. 11 bc	46. 67 \pm 2. 11 c	5. 63
F1. 2. 2	5	75	20. 00 \pm 2. 11 de	40. 00 \pm 4. 22 c	5. 89
F1. 2. 3	5	75	53. 33 \pm 4. 22 a	86. 67 \pm 2. 11 a	15. 58
F1. 2. 4	5	75	13. 33 \pm 2. 11 ef	33. 33 \pm 2. 11 cd	6. 12
F1. 2. 5	5	75	13. 33 \pm 2. 11 ef	33. 33 \pm 2. 11 cd	7. 93
F1. 2. 6	5	75	26. 67 \pm 2. 11 cd	40. 00 \pm 4. 22 c	8. 44
F1. 2. 7	5	75	13. 33 \pm 2. 11 ef	26. 67 \pm 4. 22 de	7. 49
F1. 2. 8	5	75	40. 00 \pm 2. 11 b	73. 33 \pm 4. 22 b	9. 89
F1. 2. 9	5	75	20. 00 \pm 4. 22 de	33. 33 \pm 2. 11 cd	5. 98
F1. 2. 10	5	75	26. 67 \pm 2. 11 cd	40. 00 \pm 2. 11 c	7. 35
F1. 2. 11	5	75	26. 67 \pm 2. 11 cd	40. 00 \pm 4. 22 c	8. 77

对照 Control: 含 0. 2% 苏丹红和 1% 蒸馏水的丙酮 Acetone with 0. 2% Sudan and 1% distilled water. 表中数据为平均数 \pm 标准误, 同一列数据后面有不同小写字母表示检测差异显著 (LSD 法) ($P < 0. 05$); 下同。Data in the table are mean \pm SE, and those in the same column followed by different letters differ significantly ($P < 0. 05$), based on the least significant difference (LSD) multiple comparison test. The same below.

表 2 β -石竹烯和 α -蒎烯对棉蚜的触杀毒力
Table 2 Contact toxicities of β -caryophyllene and α -pinene against *Aphis gossypii*

处理 Treatment	LD ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{individual}$)	95% 置信区间 95% Confidence limit	回归方程 Regression equation	相关系数 R	毒力倍数 Toxicity ratio
β -石竹烯 β -caryophyllene	$0. 65 \times 10^{-1}$	$0. 57 \times 10^{-1} - 0. 74 \times 10^{-1}$	$y = 3. 01 + (2. 54 \pm 0. 15)x$	0. 984	1. 57
α -蒎烯 α -pinene	$1. 68 \times 10^{-1}$	$1. 52 \times 10^{-1} - 1. 90 \times 10^{-1}$	$y = 1. 65 + (2. 13 \pm 0. 16)x$	0. 980	0. 61
黄荆种子提取物 <i>V. negundo</i> seed extract	$1. 02 \times 10^{-1}$	$0. 93 \times 10^{-1} - 1. 15 \times 10^{-1}$	$y = 1. 49 + (1. 50 \pm 0. 14)x$	0. 962	1. 00

表 3 β -石竹烯和 α -蒎烯对棉蚜的忌避毒力
Table 3 Deterrent toxicities of β -caryophyllene and α -pinene against *Aphis gossypii*

处理 Treatment	时间 (h) Time	AFC ₅₀ (mg/L)	95% 置信区间 95% Confidence limit	回归方程 Regression equation	相关系数 R	毒力倍数 Toxicity ratio
β -石竹烯	24	$0. 80 \times 10^3$	656. 13 – 933. 95	$y = -5. 22 + (1. 78 \pm 0. 13)x$	0. 941	1. 29
β -caryophyllene	48	$0. 87 \times 10^3$	740. 08 – 980. 01	$y = 0. 11 + (1. 78 \pm 0. 14)x$	0. 961	1. 55
	72	$1. 63 \times 10^3$	1 389. 41 – 1 873. 00	$y = -5. 61 + (1. 75 \pm 0. 13)x$	0. 984	1. 61
α -蒎烯	24	$0. 89 \times 10^3$	702. 88 – 1 045. 29	$y = -6. 87 + (2. 33 \pm 0. 15)x$	0. 963	1. 16
α -pinene	48	$1. 10 \times 10^3$	939. 12 – 1 244. 13	$y = -5. 49 + (1. 81 \pm 0. 13)x$	0. 958	1. 23
	72	$2. 13 \times 10^3$	1 927. 58 – 2 359. 36	$y = -4. 58 + (1. 38 \pm 0. 12)x$	0. 935	1. 23
黄荆种子提取物	24	$1. 03 \times 10^3$	872. 42 – 1 166. 38	$y = -4. 41 + (1. 46 \pm 0. 13)x$	0. 938	1. 00
<i>V. negundo</i> seed extract	48	$1. 35 \times 10^3$	1 203. 76 – 1 491. 56	$y = -4. 86 + (1. 55 \pm 0. 13)x$	0. 956	1. 00
	72	$2. 62 \times 10^3$	2 374. 37 – 2 931. 01	$y = -4. 94 + (1. 45 \pm 0. 13)x$	0. 951	1. 00

2.5 β -石竹烯和 α -蒎烯亚致死剂量下对棉蚜繁殖力和蜜露分泌的影响

由表 4 可知, β -石竹烯、 α -蒎烯和黄荆种子提取物分别处理棉蚜后, 对棉蚜的蜜滴重量, 排蜜频率, 排蜜量和繁殖力均有明显的影响, 其中以 β -石竹烯的影响最大, 其处理的棉蚜平均单雌繁殖力较对照降低了 26.06%, α -蒎烯和黄荆种子提取物处理的棉蚜单雌繁殖力较对照分别降低 6.75% 和 14.56%。

2.6 β -石竹烯和 α -蒎烯对棉蚜相关酶的抑制作用

2.6.1 β -石竹烯和 α -蒎烯对棉蚜离体酶活的影响: 由表 5 可知, β -石竹烯对乙酰胆碱酯酶的抑制

作用最强, IC_{50} 仅为 1.76×10^3 mg/L, 是 α -蒎烯毒力的 1.42 倍; 黄荆种子提取物对乙酰胆碱酯酶几乎没有抑制作用, 因其成分复杂, 其中可能含有对乙酰胆碱酯酶有抑制作用的成分。

由表 6 可知, 3 种药剂对棉蚜多酚氧化酶活性具有明显抑制作用, β -石竹烯、 α -蒎烯和黄荆种子提取物的 IC_{50} 分别为 2.71×10^3 , 3.48×10^3 和 1.96×10^3 mg/L, β -石竹烯和 α -蒎烯的抑制作用略低于黄荆种子提取物, 表明黄荆种子提取物中还存在较 β -石竹烯和 α -蒎烯对棉蚜多酚氧化酶抑制作用更高的成分。

表 4 β -石竹烯和 α -蒎烯亚致死剂量对棉蚜蜜露排泄和繁殖力的影响
Table 4 Honeydew excretion and fecundities of *Aphis gossypii* after treatment with β -caryophyllene and α -pinene at the sublethal dose

处理 Treatment	蜜滴重量(μ g/滴) Weight of droplet (μ g/drop)	排蜜频率[滴/(d·头)] Honeydew excretion frequency (drop per individual per day)	排蜜量[μ g/(d·头)] Honeydew production (μ g per drop per individual)	繁殖力(头/雌) Fertility of individual female
对照 Control	9.36 \pm 0.19 a	16.48 \pm 0.29 a	154.00 \pm 2.87 a	16.00 \pm 0.33 a
β -石竹烯 β -caryophyllene	8.22 \pm 0.11 d	13.75 \pm 0.39 d	112.74 \pm 2.40 d	11.83 \pm 0.24 d
α -蒎烯 α -pinene	9.15 \pm 0.10 ab	15.52 \pm 0.26 b	141.95 \pm 2.52 b	14.92 \pm 0.29 b
黄荆种子提取物 <i>V. negundo</i> seed extract	8.60 \pm 0.10 c	15.14 \pm 0.23 bc	130.20 \pm 2.58 c	13.67 \pm 0.14 c

对照 Control: 含 0.2% 苏丹红和 1% 蒸馏水的丙酮 Acetone with 0.2% Sudan and 1% distilled water.

表 5 β -石竹烯和 α -蒎烯对棉蚜离体乙酰胆碱酯酶活性的影响
Table 5 Effects of β -caryophyllene and α -pinene on *in vitro* AChE activities of *Aphis gossypii*

处理 Treatment	IC_{50} (mg/L)	95% 置信区间 95% Confidence limit	回归方程 Regression equation	相关系数 <i>R</i>	毒力倍数 Toxicity ratio
β -石竹烯 β -caryophyllene	1.76×10^3	1 404.38 – 2 475.23	$y = -4.92 + (1.52 \pm 0.31)x$	0.968	1.42
α -蒎烯 α -pinene	2.50×10^3	1 932.19 – 4 006.35	$y = -5.53 + (1.63 \pm 0.32)x$	0.989	1.00
黄荆种子提取物 <i>V. negundo</i> seed extract	1.66×10^6	–	$y = -2.51 + (0.40 \pm 0.40)x$	0.867	–

表 6 β -石竹烯和 α -蒎烯对棉蚜离体多酚氧化酶活性的影响
Table 6 Effects of β -caryophyllene and α -pinene on *in vitro* PPO activities of *Aphis gossypii*

处理 Treatment	IC_{50} (mg/L)	95% 置信区间 95% Confidence limit	回归方程 Regression equation	相关系数 <i>R</i>	毒力倍数 Toxicity ratio
β -石竹烯 β -caryophyllene	2.71×10^3	2 436.26 – 3 058.75	$y = -8.34 + (2.43 \pm 0.24)x$	0.984	0.72
α -蒎烯 α -pinene	3.48×10^3	3 155.73 – 3 894.51	$y = -9.48 + (2.68 \pm 0.24)x$	0.972	0.56
黄荆种子提取物 <i>V. negundo</i> seed extract	1.96×10^3	1 407.96 – 2 479.40	$y = -4.69 + (1.43 \pm 0.31)x$	0.929	1.00

表 7 和表 8 分别是 β -石竹烯等对棉蚜离体羧酸酯酶和谷胱甘肽-S-转移酶的影响, β -石竹烯、 α -蒎烯和黄荆种子提取物对羧酸酯酶的抑制作用都较强, IC_{50} 依次为 2.18×10^3 , 3.44×10^3 和 3.74×10^3 mg/L, 其中 β -石竹烯的抑制作用最大; 三者对谷胱甘肽-S-转移酶的 IC_{50} 分别为 5.29×10^3 , 8.24×10^3 和 1.42×10^4 mg/L, 也以 β -石竹烯的抑制作用最大。

2.6.2 β -石竹烯和 α -蒎烯处理棉蚜对体内酶活的影响: β -石竹烯和 α -蒎烯处理棉蚜 12 h, 对其体内乙酰胆碱酯酶有强烈的抑制作用, 抑制率分别达 43.92% 和 26.89%, 黄荆种子提取物的抑制作用较 + 小。处理后 6 h 和 24 h 结果与 12 h 基本一致。

β -石竹烯、 α -蒎烯和黄荆种子提取物分别处理棉蚜后 12 h, 对其体内多酚氧化酶均有明显的抑制作用, 抑制率分别达 39.34%, 28.35% 和 47.98%, 其中黄荆种子提取物的抑制作用最大, 处理后 6 h 和 24 h 结果与 12 h 基本一致。

β -石竹烯、 α -蒎烯和黄荆种子提取物分别处理棉蚜后 12 h, 对其体内羧酸酯酶也有较强的抑制作用, 抑制率分别达 49.31%, 22.55% 和 15.71%, 其中以 β -石竹烯对羧酸酯酶的抑制作用最大。处理后 6 h 和 24 h 结果也与 12 h 基本一致。

β -石竹烯、 α -蒎烯和黄荆种子提取物分别处理棉蚜 12 h, 对其体内谷胱甘肽-S-转移酶也有较高的抑制作用, 抑制率分别达 26.28%, 18.99% 和 17.36%, 其中以 β -石竹烯对谷胱甘肽-S-转移酶的

抑制作用最大。处理后 6 h 和 24 h 结果也与 12 h 基本一致。

3 讨论

3.1 黄荆中杀虫活性成分

黄荆中含有多种化学成分, 其中一些成分具有较高的药用价值, 目前报道的黄荆中主要药用成分为黄酮类、木脂素类和环烯醚萜类等, 具有抗炎、镇痛、抗氧化和免疫增强作用(郑公铭等, 1999; Azhar-ul-Haq *et al.*, 2006; Zheng *et al.*, 2010)。目前已有研究发现黄荆中含有杀虫活性成分, Chandramu 等(2003)从黄荆中分离得到乌苏酸(ursolic acid), 并证明其对农业害虫飞扬阿夜蛾 *Achaea janata* 3 龄幼虫有显著的拒食作用; 卢传兵等(2009)从黄荆精油中分离得到桉树脑和 α -蒎烯, 发现两者对玉米象 *Sitophilus zeamais* 成虫具有触杀、驱避和熏蒸活性, 对玉米象种群繁殖也有强烈的抑制作用。本研究通过硅胶柱层析结合活性跟踪, 从黄荆种子的二氯甲烷提取物中分离得到对棉蚜有高活性的杀虫活性组分, 用气-质联用技术鉴定出 β -石竹烯和 α -蒎烯含量分别达 7.68% 和 5.45%, 经毒力测定证明这两种成分对棉蚜具有较强的触杀和忌避作用。黄荆种子提取物有较广泛的杀虫谱和杀虫活性(袁林等, 2004, 2006; 卢传兵等, 2005; 蒋恩顺等, 2009), 今后通过进一步研究, 还可能从黄荆中分离鉴定出更多的杀虫活性成分。

表 7 β -石竹烯和 α -蒎烯对棉蚜离体羧酸酯酶活性的影响
Table 7 Effects of β -caryophyllene and α -pinene on *in vitro* CarE activities of *Aphis gossypii*

处理 Treatment	IC_{50} (mg/L)	95% 置信区间 95% Confidence limit	回归方程 Regression equation	相关系数 R	毒力倍数 Toxicity ratio
β -石竹烯 β -caryophyllene	2.18×10^3	1 732.49 – 2 647.29	$y = -5.83 + (1.75 \pm 0.31)x$	0.952	1.72
α -蒎烯 α -pinene	3.44×10^3	2 733.58 – 5 079.63	$y = -7.54 + 2.13 \pm 0.36)x$	0.997	1.09
黄荆种子提取物	3.74×10^3	3 034.23 – 5 145.17	$y = -6.01 + (1.68 \pm 0.32)x$	0.957	1.00

V. negundo seed extract

表 8 β -石竹烯和 α -蒎烯对棉蚜离体谷胱甘肽-S-转移酶活性的影响
Table 8 Effects of β -caryophyllene and α -pinene on *in vitro* GST activities of *Aphis gossypii*

处理 Treatment	IC_{50} (mg/L)	95% 置信区间 95% Confidence limit	回归方程 Regression equation	相关系数 R	毒力倍数 Toxicity ratio
β -石竹烯 β -caryophyllene	5.29×10^3	4 328.35 – 6 958.77	$y = -6.30 + (1.69 \pm 0.31)x$	0.969	2.69
α -蒎烯 α -pinene	8.24×10^3	6 173.24 – 14 888.89	$y = -5.62 + (1.44 \pm 0.32)x$	0.980	1.73
黄荆种子提取物	1.42×10^4	8 601.46 – 72 111.32	$y = -4.67 + (1.12 \pm 0.32)x$	0.963	1.00

V. negundo seed extract

3.2 黄荆中 β -石竹烯对棉蚜的致毒作用评价

本研究表明, β -石竹烯和 α -蒎烯对棉蚜有显著的触杀和忌避作用, 亚致死剂量处理能显著抑制棉蚜的繁殖力, 使棉蚜的排蜜频率和蜜滴重量减小。已报道杀蚜虫高活性生物碱毒藜碱和烟碱, 对萝卜蚜 *Lipaphis erysimi* 无翅成蚜的致死中浓度 LC_{50} 分别为 0.68×10^3 和 1.09×10^3 mg/L (罗万春等, 1997); 氧化苦参碱对蚕豆蚜 *Aphis fabae* 触杀 LC_{50} 为 3.81×10^3 mg/L, 对桃蚜 *Myzus persicae* 的触杀 LC_{50} 为 7.63×10^3 mg/L; 槐果碱对蚕豆蚜和桃蚜的触杀 LC_{50} 为 3.33×10^3 和 4.62×10^3 mg/L (袁静等, 2004)。而本研究采用仅测定触杀毒力的点滴法处理棉蚜, β -石竹烯、 α -蒎烯对棉蚜的 LD_{50} 分别为 0.65×10^{-1} 和 1.68×10^{-1} μ g/头, 而黄荆种子提取物的 LD_{50} 为 1.02×10^{-1} μ g/头。表明 3 种供试药剂的毒力可能有更好的杀虫活性。本研究还发现 β -石竹烯、 α -蒎烯和黄荆种子提取物对棉蚜有显著的忌避作用, 3 种药剂处理 24 h 的忌避中浓度依次为 0.80×10^3 , 0.89×10^3 和 1.03×10^3 mg/L。不论是在触杀毒力、忌避毒力, 还是在抑制繁殖力等方面, 皆以 β -石竹烯的毒力最高, 可见, β -石竹烯不仅触杀毒力高, 而且致毒方式多样, 是黄荆种子提取物中的重要杀虫活性成分, 开发应用价值大。

3.3 β -石竹烯和 α -蒎烯的致毒机制

棉酚 (gossypol)、柠檬醛 (citral)、胡薄荷酮 (pulegone)、芳樟醇 (linalool)、(-)-冰片醋酸酯 [(-)-bornyl acetate] 和桉树脑 6 种萜类化合物可以有效抑制大蜡螟 *Galleria mellonella* 乙酰胆碱酯酶活性 (Keane and Ryan, 1999); 黄荆中萜类成分 α -蒎烯和桉树脑对玉米象乙酰胆碱酯酶有显著的抑制活性 (卢传兵等, 2009), IC_{50} 分别为 2.88×10^3 和 6.05×10^3 mg/L, 表明乙酰胆碱酯酶是 α -蒎烯和桉树脑的作用靶标之一。本研究中, β -石竹烯和 α -蒎烯对棉蚜乙酰胆碱酯酶的 IC_{50} 分别为 1.76×10^3 和 2.50×10^3 mg/L, 表明二者都是乙酰胆碱酯酶抑制剂。

本研究还发现, 黄荆种子提取物对棉蚜多酚氧化酶活性具有明显的抑制作用, IC_{50} 为 1.96×10^3 mg/L, 而 β -石竹烯和 α -蒎烯的抑制作用较黄荆种子提取物略低, 说明虽然多酚氧化酶也是 β -石竹烯和 α -蒎烯的作用靶标, 但黄荆种子提取物中还存在较 β -石竹烯和 α -蒎烯抑制作用更高的活性成分。至于 β -石竹烯、 α -蒎烯以及黄荆种子提取物

对多酚氧化酶的抑制机理还有待于进一步深入细致的研究。

谷胱甘肽-S-转移酶和羧酸酯酶都是昆虫体内重要的代谢解毒酶系, 它们参与昆虫对内源或异源有毒物质的解毒代谢, 特别是在杀虫剂的解毒代谢方面起着重要的作用 (张文吉等, 1996)。 β -石竹烯、 α -蒎烯和黄荆种子提取物对棉蚜羧酸酯酶和谷胱甘肽-S-转移酶都表现出明显的抑制作用, 从而影响其正常的生理功能。

总之, 乙酰胆碱酯酶和多酚氧化酶是 β -石竹烯和 α -蒎烯的作用靶标, 羧酸酯酶和谷胱甘肽-S-转移酶两种代谢酶也都可被其抑制, 表明 β -石竹烯和 α -蒎烯杀虫机制具有多样性。

参 考 文 献 (References)

- Azhar-ul-Haq, Malik A, Khan MTH, Anwar-ul-Haq, Khan SB, Ahmad A, Choudhary MI, 2006. Tyrosinase inhibitory lignans from the methanol extract of the roots of *Vitex negundo* Linn. and their structure-activity relationship. *Phytomedicine*, 13(4): 255–260.
- Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2): 248–254.
- Chandramu C, Manohar RD, Krupadanam DGL, Dashavantha RV, 2003. Isolation, characterization and biological activity of betulinic acid and ursolic acid from *Vitex negundo* L. *Phytotherapy Research*, 17(2): 129–134.
- Chen ZF, Li YH, Chen XL, 1999. Study on chemical constituents of essential oil from *Vitex negundo* Linn. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 19(2): 354–356. [陈振峰, 李月华, 陈新露, 1999. 黄荆挥发油化学成分的研究. 西北植物学报, 19(2): 354–356]
- Ellman GL, Courtney KD, Andres VJ, Featherstone RM, 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7: 88–95.
- Habig WH, Jakoby WB, 1981. Assays for differentiation of glutathione S-transferases. *Methods in Enzymology*, 77: 398–405.
- Jiang ES, Xue M, Liu YQ, Wang YF, 2009. Toxicity of *Vitex negundo* extract to aphids and its co-toxicity with imidacloprid. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 20(3): 686–690. [蒋恩顺, 薛明, 刘雨晴, 王玉峰, 2009. 黄荆提取物对蚜虫的毒力及其与吡虫啉的联合毒力. 应用生态学报, 20(3): 686–690]
- Keane S, Ryan MF, 1999. Purification, characterization, and inhibition by monoterpenes of acetylcholinesterase from the waxmoth, *Galleria mellonella* (L.). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 29(12): 1097–1104.
- Liu SS, 1987. Introduce a method of rearing aphids: a new method of leaf disc. *Entomological Knowledge*, 24(2): 98, 113–115. [刘树生, 1987. 介绍一种饲养蚜虫的方法—新的叶子圆片法. 昆虫知识, 24(2): 98, 113–115]

- Lu CB, Xue M, Liu YQ, Liu AH, Wang HT, 2009. Insecticidal components and toxicity of *Vitex negundo* (Lamiales: Verbenaceae) essential oil to *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and their action mechanisms. *Acta Entomologica Sinica*, 52(2): 159–167. [卢传兵, 薛明, 刘雨晴, 刘爱红, 王洪涛, 2009. 黄荆精油对玉米象的杀虫活性成分、毒力及作用机制. 昆虫学报, 52(2): 159–167]
- Lu CB, Xue M, Liu YQ, Pang YH, Wang CX, 2005. Study on effect of volatile oils of *Vitex negundo* against *Sitophilus zeamais* (Motschulsky). *Grain Storage*, 34(6): 13–16. [卢传兵, 薛明, 刘雨晴, 庞云红, 王承香, 2005. 黄荆挥发油对玉米象的生物活性及种群控制作用. 粮食储藏, 34(6): 13–16]
- Luo WC, Li YS, Mu LY, Zhao SH, 1997. The toxicities of alkaloids from *Sophora alopecurids* against turnip aphids and effect on several sterases. *Acta Entomologica Sinica*, 40(4): 358–365. [罗万春, 李云寿, 慕立义, 赵善欢, 1997. 苦豆子生物碱对萝卜蚜的毒力及其对几种酯酶的影响. 昆虫学报, 40(4): 358–365]
- Meng L, Wang WQ, 1996. Effect of boron and zinc on development and honeydew excretion of *Aphis gossypii* Glover. *Acta Gossypii Sinica*, 8(4): 208–211. [孟玲, 王文全, 1996. 微量元素硼锌对棉蚜生长发育和排蜜的影响. 棉花学报, 8(4): 208–211]
- Van Asperen K, 1962. A study of housefly esterases by means of a sensitive colorimetric method. *Journal of Insect Physiology*, 8(4): 401–416.
- Wang KY, Jiang XY, Yi MQ, Lü BQ, Zhang HC, Li CZ, 2000. Studies on resistance and mechanism of *Aphis gossypii* in main planting vegetables areas of Shandong province. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2(3): 19–24. [王开运, 姜兴印, 仪美芹, 吕宝乾, 张洪才, 李长征, 2000. 山东省主要菜区瓜(棉)蚜(*Aphis gossypii* Glover)抗药性及机理研究. 农药学学报, 2(3): 19–24]
- Yang YZ, Lu YH, Xue WJ, Yu YS, Li XH, Wang F, Yang HY, Liu Y, 2005. Effects of change in the content of sugars and free amino acids in transgenic cotton cultivars on the secretion amount and major nutritive components of honeydew of *Aphis gossypii* Glover. *Acta Entomologica Sinica*, 48(4): 491–497. [杨益众, 陆宴辉, 薛文杰, 余月书, 李晓慧, 王峰, 杨海燕, 刘洋, 2005. 转基因棉花中糖类和游离氨基酸含量的变化对棉蚜泌蜜量及蜜露主要成分的影响. 昆虫学报, 48(4): 491–497]
- Yuan J, Lü LZ, Cong B, Zhang ZJ, Wang FY, 2004. Biological activity of alkaloids from *Sophora flavescens* Ait to pests. *Chinese Journal of Pesticides*, 43(6): 284–287. [袁静, 吕良忠, 丛斌, 张宗俭, 王凤宇, 2004. 苦参生物碱杀虫生物活性测定. 农药, 43(6): 284–287]
- Yuan L, Xue M, Liu YQ, Wang HS, 2006. Toxicity and oviposition-deterrence of *Vitex negundo* extracts to *Plutella xylostella*. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 17(4): 695–698. [袁林, 薛明, 刘雨晴, 王合生, 2006. 黄荆提取物对小菜蛾幼虫毒力及对成虫的产卵忌避作用. 应用生态学报, 17(4): 695–698]
- Yuan L, Xue M, Xing J, Li CH, 2004. Toxicity of *Vitex negundo* extracts to several insect pests. *Chinese Journal of Pesticides*, 43(2): 70–72. [袁林, 薛明, 邢健, 李昌浩, 2004. 黄荆提取物对几种害虫的杀虫活性. 农药, 43(2): 70–72]
- Zhang WJ, Zhang YJ, Han XL, 1996. Studies on the carboxylesterase glutathione-S-transferase and acetylcholinesterase in different ages of *Helicoverpa armigera* larva. *Acta Phytophylacica Sinica*, 23(2): 157–162. [张文吉, 张友军, 韩喜莱, 1996. 棉铃虫不同龄期幼虫羧酸酯酶、谷胱甘肽转移酶、乙酰胆碱酯酶研究. 植物保护学报, 23(2): 157–162]
- Zheng CJ, Huang BK, Wang Y, Ye Q, Han T, Zhang QY, Zhang H, Qin LP, 2010. Anti-inflammatory diterpenes from the seeds of *Vitex negundo*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 18(1): 175–181.
- Zheng GM, Luo ZM, Chen DM, 1999. Studies on the antioxygenic composition of *Vitex negundo* L. *Journal of Guangdong University of Technology*, 16(2): 41–47. [郑公铭, 罗宗铭, 陈达美, 1999. 黄荆籽抗氧化成分研究. 广东工业大学学报, 16(2): 41–47]
- Zhong JF, Lu YJ, Liu FJ, Li XK, Guo YF, 2007. A review on insecticide mechanism in botanical pesticides. *Science and Technology of Cereal Oils and Foods*, 15(3): 32–34. [仲建锋, 鲁玉杰, 刘凤杰, 李兴奎, 郭云峰, 2007. 植物源农药杀虫机理研究进展. 粮油食品科技, 15(3): 32–34]
- Zhou Q, Liang GW, Zeng L, Shen SP, 2002. The control efficiency of some plant alcohol extracts on the laboratory populations of *Myzus persicae* (Sulzer) and *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach). *Scientia Agricultura Sinica*, 35(11): 1 356–1 360. [周琼, 梁广文, 曾玲, 沈叔平, 2002. 多种植物乙醇提取物对桃蚜和萝卜蚜试验种群的控制作用. 中国农业科学, 35(11): 1 356–1 360]

(责任编辑: 赵利辉)